

## **BAB III. METODE PELAKSANAAN**

### **3.1 Waktu dan Tempat**

Kegiatan penelitian dilaksanakan di Laboratorium Peternakan, Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan dan di Laboratorium Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang. Waktu pelaksanaan penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2018 sampai Maret 2019.

### **3.2 Alat dan Bahan**

#### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 2 bagian yaitu: Alat yang digunakan proses perendaman dan alat yang digunakan untuk pengambilan data. Alat yang digunakan untuk proses penelitian meliputi: gelas ukur, ember, pisau, plastik dan penjepit, penyaring berdiameter 20 cm. Alat yang digunakan untuk pengambilan data meliputi: pH meter, timbangan analitik, perhitungan coloni (*Colony counter*). Alat penunjang menggunakan *beaker glass*, gelas ukur, cawan petri, inkubator, tabung reaksi, kertas saring, sentrifuge, penyaring, sarung tangan, masker, buku panduan, buku catatan, camera, label sampel, kantong plastik, kalkulator, *stopwatch*.

#### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 20 sampel daging ayam broiler dengan bobot 1 kg dan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.).

Bahan penunjang yang digunakan yaitu aquades, NaCl media agar plate count agar (PCA), *buffer peptone water* (BPW), media *eosin methylene blue* agar (EBM), media *salmonella sigella* agar (SSA).

### 3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan adalah penelitian yang bersifat *eksperimental*, pengujian menggunakan rebusan kayu secang yang ditambahkan pada daging broiler pada proses perendaman, sebagai control digunakan daging broiler tanpa penambahan rebusan kayu secang.

#### 3.3.1 Perlakuan

Perlakuan yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan pemberian rebusan kayu secang sebagai pengawet perendaman pada daging broiler. Daging broiler sebanyak 1 kg direndam dalam rebusan kayu secang selama 10 menit dan ditiriskan selama 10 menit, setelah itu di biarkan disuhu ruang selama 8 jam. Kemudian diambil bagian dada untuk sampel pengujian. Perlakuan dibagi menjadi 4 taraf yaitu:

P0: Tanpa perendaman (control)

P1: Daging ayam broiler + Konsentrasi rebusan kayu secang 4 %

P2: Daging ayam broiler + Konsentrasi rebusan kayu secang 8 %

P3: Daging ayam broiler + Konsentrasi rebusan kayu secang 12 %

Penelitian menggunakan 4 perlakuan dengan 5 ulangan, sehingga akan diperoleh 20 *flock*/satuan percobaan. Perhitungan banyaknya ulangan didasarkan pada rumus sebagai berikut:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

Dimana:

t = *treatment* atau perlakuan

r = *replication* atau ulangan

### 3.3.2 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan ini digunakan karena materi dan kondisi percobaan yang digunakan relatif seragam, dengan materi percobaan 20 sampel daging ayam broiler. Secara matematik RAL dapat ditulis sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \sum_{ij}$$

Keterangan:

$Y_{ij}$  = Nilai pengamatan variable terukur dan variable terikat ( $Y_{ij}$ )

$\mu$  = Nilai rata-rata pengukuran populasi

$\tau_i$  = Pengaruh perlakuan

$\sum_{ij}$  = Galat atau kesalahan percobaan

$i$  = Perlakuan ( $i=1,2,3,\dots,t$ )

$j$  = Ulangan ( $j=1,2,3,\dots,r$ )

Dengan menggunakan perhitungan matematik, selanjutnya dapat dilanjutkan dengan menggunakan tabulasi data untuk menghitung jumlah kuadrat. Berikut disajikan dalam Tabel 3.1.

**Tabel 3.1 Tabulasi data**

Ulangan	Perlakuan				$\sum y_i$
	P0	P1	P2	P3	
U1					
U2					
U3					
U4					
U5					
					$\sum y \dots$

### 3.3.3 Denah Percobaan

Perlakuan		Ulangan				$\sum Y_i$
P0	U1	U2	U3	U4	U5	
P1	P1U1	P1U2	P1U3	P1U4	P1U5	
P2	P2U1	P2U2	P2U3	P2U4	P2U5	
P3	P3U1	P3U2	P3U3	P3U4	P3U5	
$\sum Y_j$						$\sum Y_{....}$

Keterangan:

- 0, 1, 2, 3 pada huruf P = Perlakuan level ekstrak rebusan kayu secang  
 1, 2, 3, 4, 5 pada huruf U = Ulangan ke 1, ulangan ke 2, ulangan ke 3, ulangan ke 4, dan ulangan ke 5

### 3.4 Metode Analisis Data

Pengambilan data kualitas fisik dan jumlah bakteri pencemar daging broiler dilakukan diakhir penelitian dimana dalam pengambilan data dibutuhkan waktu 8 jam setelah perendaman. Data kualitatif dianalisis secara deskriptif yang mengacu pada standart sebagai berikut:

Tabel 3.2 Standart Nilai Acuan Hasil Pengujian

No.	Pengujian	Standart acuan	
1.	pH	5,4 - 5,8	(Soeparno, 1992)
2.	Daya ikat air	63,48 % - 71,33 %	(Agustina <i>et.al.</i> , 2012)
3.	Susut masak	15 % - 40 %	(Soeparno, 2005)
4.	<i>Total Plate count</i>	$1 \times 10^6$	(SNI, 2008)
5.	<i>Escherichia coli</i>	$1 \times 10^1$	(SNI, 2008)
6.	<i>Salmonella sp</i>	Negatif	(SNI. ICS.67.120.20., 2009)

### 3.5 Batasan Variabel dan Cara Pengamatan

Penelitian ini terdapat dua jenis variabel yaitu variable bebas yaitu pemberian rebusan kayu secang 0 %, 4 %, 8%, 12 % dan variable terikat yaitu pengujian kualitas fisik dan pengujian jumlah bakteri pencemar, sedangkan cara pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini terdiri dari:

### 3.5.1 Pengujian Kualitas Fisik

#### 1. Uji pH (AOAC, 2005)

Analisis pH daging ayam ditentukan berdasarkan analisis kimia menurut AOAC (2005). Langkah-langkah analisis tersebut sebagai berikut :

- a. Sampel daging ayam seberat 25 g ditambahkan 50 ml aquades, kemudian diblender sampai homogen.
- b. Nilai pH ditentukan dengan menggunakan pH meter. Sebelum dilakukan pengukuran, pH meter perlu dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan buffer pH 4 dan 7.
- c. Setelah dikalibrasi baru dilakukan pengukuran sampel dengan cara mencelupkan elektroda ke dalam larutan sampai diperoleh pembacaan yang stabil.

#### 2. Pengujian Daya Ikat Air (DIA) (Isanga dan Zhang, 2009)

Pengukuran daya ikat air yaitu kapasitas daya ikat air oleh protein daging dapat ditentukan dengan metode sentrifus, yaitu sebanyak 10 g daging cacah halus dimasukkan ke dalam tabung sentrifus berukuran 50 ml yang telah diketahui beratnya. Tambahkan akuades sebanyak 10 ml ke dalam tabung. Setelah itu, tabung disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Cairan dipisahkan dari campuran dan diukur volumenya. Selanjutnya dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ DIA} = \frac{\text{volume (ml) air yang diserap}}{\text{Berat (g) daging}}$$

Dimana :

- o DIA merupakan daya menahan air yang menunjukkan kemampuan daging untuk mengikat air bebas.

### 3. Pengujian susut masak (Kaoba, 2003)

Pengukuran susut masak pada daging dapat dilakukan dengan cara menimbang sampel 20 g sebagai berat awal dan sampel dimasukkan ke dalam plastik. Setelah itu, sampel dimasak pada suhu 75 °C selama 15 menit, kemudian sampel didinginkan pada suhu ruang selama 1 jam dan ditimbang kembali. Nilai susut masak dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ susut masak} = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100\%$$

Keterangan:

W0: berat awal

W1: berat akhir

### 3.5.2 Pengujian Jumlah Bakteri Pencemar

#### 1. Uji Total Plate Count (TPC) (SNI 2897:2008)

Perhitungan dan pelaporan TPC dilakukan dengan aturan menurut SNI 2897:2008 dengan metode *pour plate* dimana sampel daging yang sudah dihancurkan sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam 45 ml *Buffer Peptone Water* (BPW) 0,1 % steril sehingga didapat pengenceran  $10^1$  (P1). Sebanyak 1 ml suspensi dari P1 dipindahkan dengan pipet steril ke dalam 9 ml BPW 0,1 % steril untuk mendapatkan pengenceran  $10^2$  (P2), dengan cara yang sama dilakukan pengenceran sampai dengan pengenceran  $10^6$  (P6). Selanjutnya dari masing-masing pengenceran  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$  dan  $10^6$

diambil 1 ml untuk dimasukkan ke dalam cawan petri steril dengan system duplo, kemudian dituang sebanyak 10 - 15 ml media cair *plate count agar* (PCA) (Oxoid CM 0325) steril dan dihomogenkan dengan cara menggeserkan cawan horizontal atau membentuk angka delapan dan dibiarkan hingga memadat. Tahap selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37 °C dengan posisi cawan terbalik selama 24 - 48 jam. Cara perhitungannya yaitu mula-mula hitung semua koloni yang tumbuh dalam setiap cawan petri yang berisi 25 - 250 koloni dengan menggunakan colony counter. Hitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Jumlah mikroba} = \text{Jumlah Koloni} \times \frac{1}{\text{Tingkat Pengenceran}}$$

## 2. Pengujian *Escherichia coli* (SNI 2897:2008)

Identifikasi dan perhitungan *Escherichia coli* dilakukan menurut SNI 2897:2008 dengan menggunakan metode cawan tuang dengan menggunakan metode selektif *Esion Methylene blue* agar (EMB). Sampel daging yang sudah dihancurkan sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam 45 ml NaCl steril sehingga didapat pengenceran 10<sup>1</sup> (P1). Sebanyak 1 ml suspensi dari P1 dipindahkan dengan pipet steril ke dalam 9 ml NaCl untuk mendapatkan pengenceran 10<sup>2</sup> (P2), dengan cara yang sama dilakukan pengenceran sampai dengan pengenceran 10<sup>3</sup> (P3) dan setelah pengenceran ambil 1 ml suspensi kemudian dituang ke dalam media *Esion Methylene blue* (EMB) yang sudah siap. Inkubasi biakan tersebut dengan posisi tutup cawan petri tetap diatas, kemudian baru cawan dibalik. selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, sehingga

didapatkan koloni berwarna merah tua (merah ungu). Rata-rata jumlah koloni diambil dari setiap pengenceran dengan jumlah koloni 15 - 300. Jika terdapat dua pengenceran yang jumlah koloninya 15 - 300, maka dicari rata-rata dan dikalikan dengan faktor pengencer terendah.

### 3. Pengujian *Salmonella* sp (Fardiaz, 1992)

Pengujian salmonela sp dilakukan menurut Fardiaz (1992) dengan menggunakan metode tuang (pour plate) dengan media *Salmonella shigella* agar (SSA) dimana sampel daging yang sudah dihancurkan sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam 45 ml NaCl sehingga didapat pengenceran  $10^1$  (P1). Sebanyak 1 ml suspensi dari P1 dipindahkan dengan pipet steril ke dalam 9 ml NaCl untuk mendapatkan pengenceran  $10^2$  (P2), dengan cara yang sama dilakukan pengenceran sampai dengan pengenceran  $10^3$  (P3) dan setelah pengenceran ambil 1 ml suspensi kemudian dituang ke dalam media selektif *salmonella shigella* agar (SSA). Inkubasi biakan tersebut dengan posisi tutup cawan petri tetap diatas, kemudian baru cawan dibalik. Setelah diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam, sehingga didapatkan koloni berwarna merah bintik hitam di tengah. Jumlah koloni per gram sampel dihitung dengan rumus:

$$\text{Jumlah bakteri} = \frac{\text{jumlah koloni} \times 1}{\text{Volume suspensi} \times \text{faktor pengencer}}$$

Selanjutnya hasil yang diperoleh dari masing-masing pengamatan dianalisis secara deskriptif.

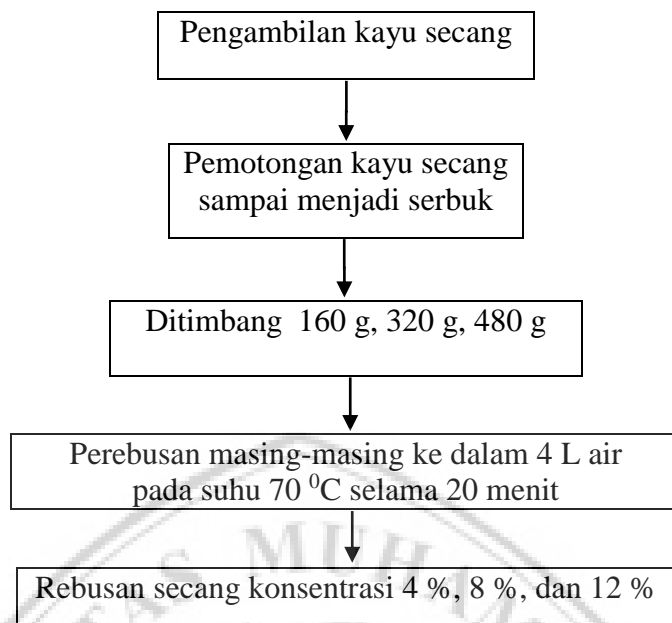


### 3.6 Pelaksanaan Penelitian

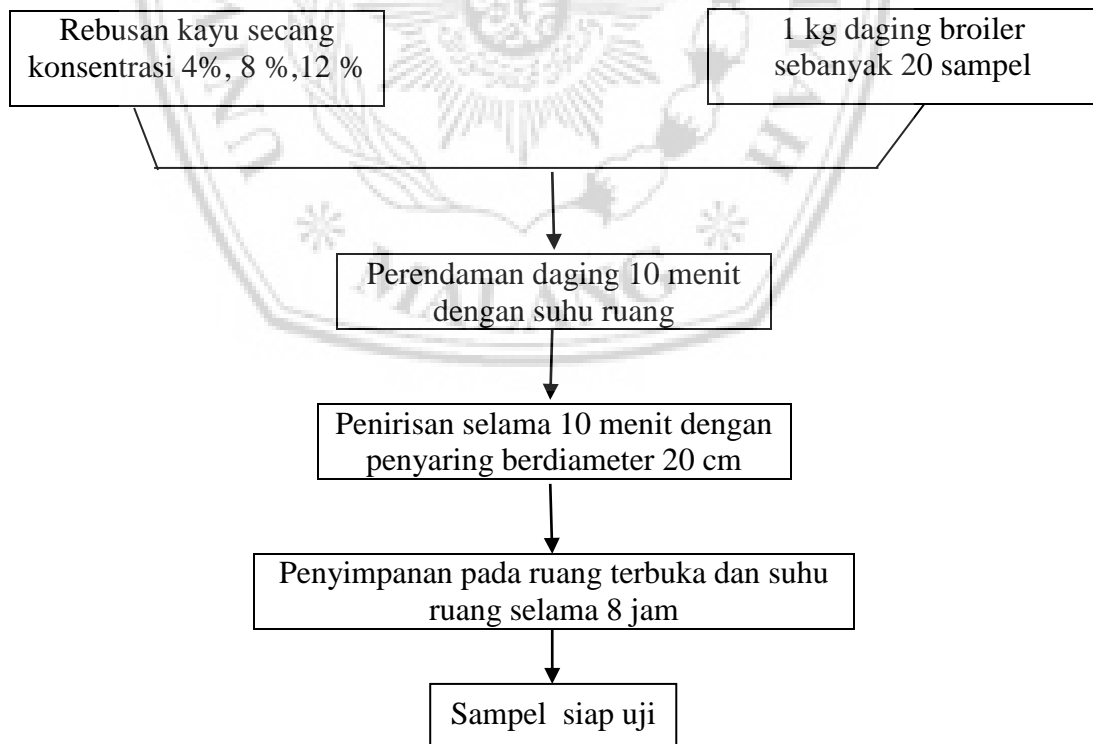
Secara garis besar penelitian ini terdiri dari tiga tahap. Penelitian tahan I dilakukan sebelum penelitian yaitu pembuatan rebusan kayu secang diawali dengan memotong batang kayu secang sampai menjadi serbuk, selanjutnya menimbang serbuk kayu secang seberat 160 g, 320 g, 480 g. Kemudian memanaskan air sampai suhu 70 °C, setelah air mendidih pencampuran kayu secang dengan perbandingan 160 g, 320 g, 480 g kayu secang masing-masing kedalam 4 L air selama 20 menit 1:100 (b/v) (Ningsih, 2015). Suhu dan waktu perebusan mengacu pada Farhana *et.al.* (2015).

Penelitian tahap II perendaman daging broiler yaitu pengambilan daging ayam broiler sebanyak 20 sampel dengan bobot rata-rata 1 kg. Kemudian daging direndam ke dalam lautan rebusan kayu secang 0 %, 4 %, 8 % dan 12 % dengan suhu ruang selama 10 menit. lalu ditiriskan selama 10 menit menggunakan penyaring berdiameter 20 cm. Selanjutnya daging di simpan ke dalam wadah yang berbeda sesuai perlakuan pada ruang terbuka dan suhu ruang selama 8 jam.

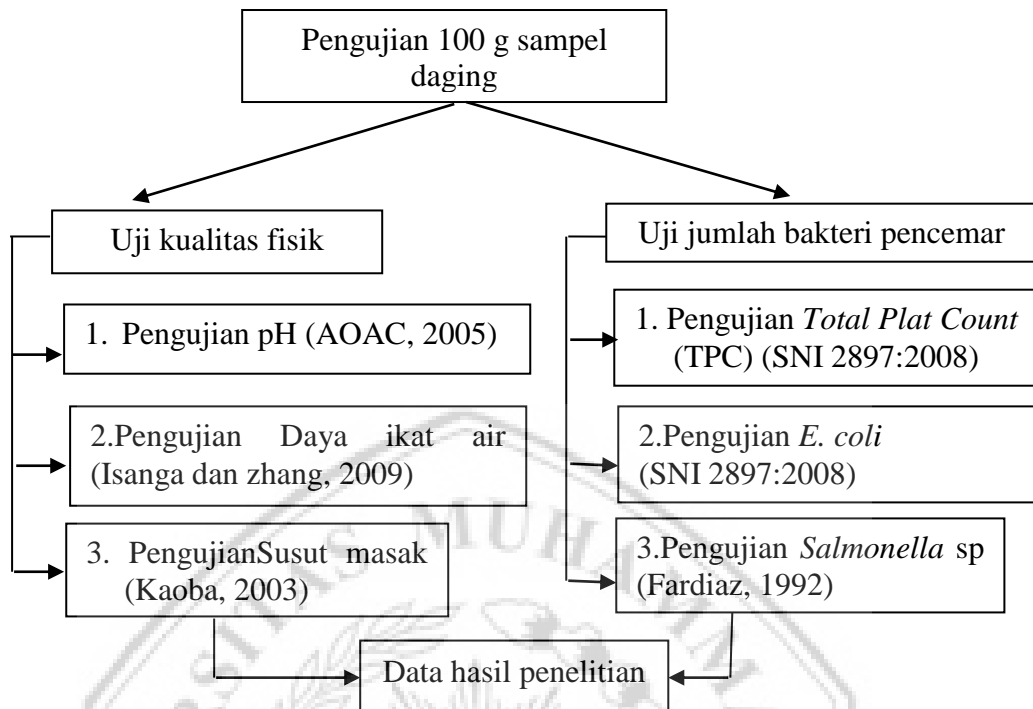
Penelitian tahan III yaitu pengujian sampel yang dilakukan setelah mendapatkan perlakuan peredaman rebusan kayu secang selama 10 menit dan dibiarkan terbuka pada suhu ruang selama 8 jam selanjutnya pengambilan sampel bagian dada sebanyak 100 g dan dilakukan pengujian kualitas fisik meliputi pH Meter, daya ikat air (DIA), susut masak dan pengujian jumlah bakteri pencemar yaitu TPC, *E. coli* dan *Salmonella* sp. Diagram alir metode penelitian secara garis besar dapat dilihat pada Gambar 3.1, 3.2 dan Gambar 3.3.



Gambar 3.1 Diagram alir metode penelitian tahap I proses pembuatan rebusan kayu secang



Gambar 3.2. Diagram alir metode penelitian tahap II perendaman daging



Gambar 3.3. Diagram alir metode penelitian tahap III Pengujian sampel